

氏名(本籍)	まつ 村 和 美 (神奈川県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博甲第2935号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	シスチン・グルタミン酸交換輸送系の酸化ストレスによる発現制御
主査	筑波大学教授 医学博士 山本雅之
副査	筑波大学助教授 医学博士 川上康
副査	筑波大学講師 医学博士 小林公子
副査	筑波大学講師 医学博士 吉澤利弘

## 論文の内容の要旨

### (目的)

シスチン・グルタミン酸交換輸送系(Xc<sup>-</sup>系)はナトリウム非依存的に細胞外のシスチンを細胞内のグルタミン酸との交換輸送で取り組むアミノ酸輸送系である。Xc<sup>-</sup>系を介して細胞内に流入したシスチンは、システインに還元され、主要な生体内抗酸化物質であるグルタチオン合成の前駆体として利用される。最近、ヒトやマウスにおいて、Xc<sup>-</sup>系の活性を担う蛋白質の遺伝子がクローン化され、Xc<sup>-</sup>系はxCTと4F2hcの2つの蛋白質から構成されていることが理解された。本研究では、腹腔マクロファージや線維芽細胞IMR90において、Xc<sup>-</sup>系活性の発現に対する酸素やリポポリサッカライド(LPS)の影響を明らかにすることを目的にした。

### (対象と方法)

1. マウス腹腔マクロファージや、マクロファージ系培養細胞株RAW264、線維芽細胞IMR90を解析に用いた。
2. アミノ酸輸送活性としては、<sup>14</sup>C標識アミノ酸の単位時間当たりの細胞内取り込みを測定した。
3. 細胞内mRNA量はノーザン法を用いて、測定した。
4. 転写因子結合配列と核蛋白質の結合は、ゲルシフト法を調べた。
5. 細胞内システイン量はHPLC法で測定した。また、グルタチオン量は酸素サイクリング法で測定した。
6. 遺伝子制御領域は、レポーター遺伝子トランスフェクション法で検討した。

### (結果)

1. LPSで刺激した腹腔マクロファージでは、酸素濃度に依存してXc<sup>-</sup>系の活性が上昇した。  
また、xCT mRNAの発現も酸素とLPSによって誘導された。
2. 酸素によるxCT mRNAの増加は、NF-κB以外の転写活性化経路を介していることが示唆された。
3. 腹腔マクロファージでは、酸素とLPSは細胞内グルタチオンとシステイン濃度を上昇させたが、この時に、内因性のグルタチオン供給系酵素の発現誘導は見られなかった。
4. Nrf2ノックアウトマウスから得た腹腔マクロファージでは、親電子性試薬によるXc<sup>-</sup>系活性の誘導は見られなかったが、シスチン欠乏ストレスではそれは誘導された。すなわち、両者は異なる制御経路を利用している

ことが示唆された。

5. xCT 遺伝子上流制御領域約 3kb の範囲内には酸素応答性領域は見つからなかった。

(考察)

腹腔マクロファージにおいて、酸素と LPS により、Xc<sup>-</sup>系の活性が、上昇し、細胞内システイン濃度とグルタチオンレベルが上昇することが明らかとなった。このことは、炎症部位におけるマクロファージの機能を考えると、マクロファージの生存に合理的である。また、本研究から親電子性試薬やシスチン欠乏ストレス時の Xc<sup>-</sup>系の誘導には、複数のシグナル系が関与していることが示唆されたが、この点はまさに今後解明されるべき課題である。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、シスチン交換輸送系の遺伝子発現と酸素濃度の関係に挑んだ興味深い試みである。主題に対して多方面からのアプローチが行われており、博士課程の研究として、その踏み込み方は評価される。また、本システムの遺伝子の多様な誘導発現機構の一端を明らかにした点も、評価される。一方、まだデータにネガティブな面が多く、除外はできているが、本質に迫りきれなかった点もある。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。